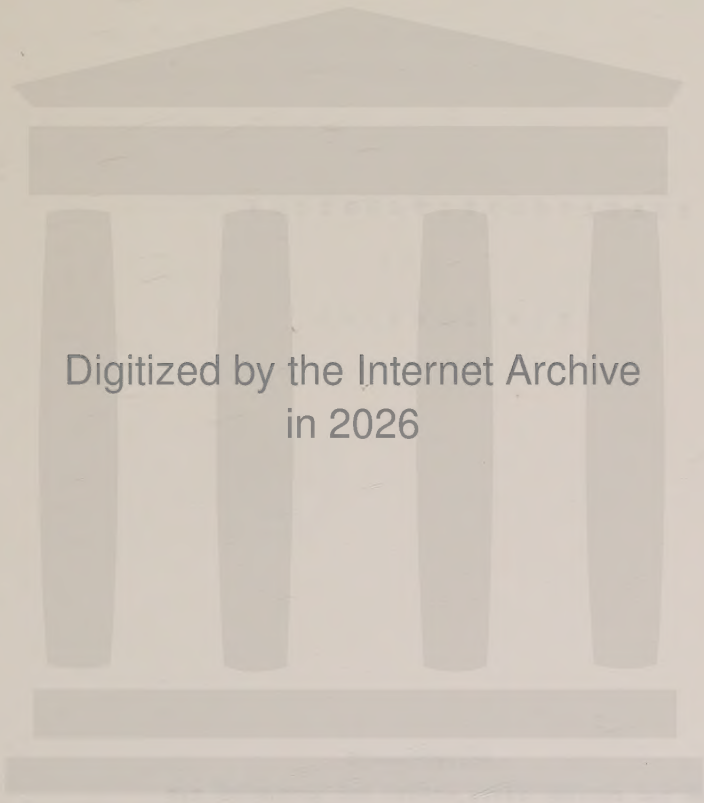
Blutkulturverfahren bei Anaerobiern

Dissertation

Bernhard Lohmann

1979

1980


Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41543910_0061

Aus dem Institut für Medizinische Mikrobiologie
und Virologie der Universität Düsseldorf
Direktor: Prof. Dr. med. P. Naumann

B L U T K U L T U R V E R F A H R E N

B E I

A N A E R O B I E R N

Dissertation
zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin
der Medizinischen Fakultät der Universität Düsseldorf
vorgelegt von

Bernhard Lohmann

1979

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität Düsseldorf

Der Dekan	Referent
der Medizinischen Fakultät	gez.: Prof.Dr. Rosin
der Universität Düsseldorf	Korreferent:
gez.: Prof. Dr. Krüskemper	gez.:Priv.-Doz. Dr. Königshausen

UNIV. LEIDEN BIBL.

Herrn Professor Dr. med. P. Naumann, Direktor des Instituts für Medizinische Mikrobiologie und Virologie der Universität Düsseldorf, danke ich für die Unterstützung meiner Arbeit und für seine wertvollen Anregungen.

Mein besonderer Dank gilt Herrn Professor Dr. med. H. Rosin für die Überlassung des Themas und die umfassende Betreuung dieser Dissertation.

Bedanken möchte ich mich bei den Blutspendern Fräulein R. Paatz, Herrn Prof. Dr. Rosin und Herrn Dr. Hagedorn, sowie bei allen Mitarbeitern des Instituts, welche mir bei den experimentellen Arbeiten behilflich waren.

Für die Überlassung von vier Stämmen anaerob wachsender Kokken danke ich Herrn Professor Dr. med. H. Werner, Institut für Medizinische Mikrobiologie und Immunologie der Universität Bonn.

INHALT

	Seite
A. Einleitung	1
B. Literaturstudium	
I. Die pathogenetische Bedeutung der nichtsporenbildenden Anaerobier	2
II. Angaben zur Blutkulturtechnik bei nichtsporenbildenden Anaerobiern	4
C. Eigene experimentelle Untersuchungen	
I. Material und Methode	7
II. Ergebnisse	12
D. Diskussion	18
E. Zusammenfassung	26
F. Literatur	27
Lebenslauf	

A.EINLEITUNG

Zur bakteriologischen Sicherung einer Sepsis und als Voraussetzung einer gezielten Sepsis-Therapie ist eine Erregerdiagnose durch Blutkulturen notwendig. Diese Aufgabe ist erschwert, wenn anaerob wachsende Bakterien allein oder bei Mischinfektionen neben Aerobiern ursächlich an der Septikämie beteiligt sind. Insbesondere die nichtsporenbildenden Anaerobier stellen weit höhere Ansprüche an das Blutkulturverfahren als die üblichen Sepsiserreger. Es wird angenommen, daß die Nachweishäufigkeit anaerob wachsender Bakterien bisher aus technischen Gründen relativ zu niedrig war (1).
Durch neue Blutkulturflaschen, bei denen das Patientenblut direkt in Fertignährmedien einfließt, soll diese angebliche bakteriologisch-diagnostische Lücke geschlossen werden können. In dieser Arbeit wird die Leistungsfähigkeit der neuen Verfahren experimentell geprüft und mit dem konventionellen Vorgehen nach Blutentnahme mittels Liquoidvenüle verglichen.

B. LITERATURSTUDIUM

I. Die pathogenetische Bedeutung der nichtsporenbildenden Anaerobier

Medizinisch wichtig sind unter den nichtsporenbildenden Anaerobiern

1.) als gramnegative Stäbchenbakterien die Bacteroidaceae. Hierzu gehören die Bacteroides-Arten (insbesondere Bacteroides fragilis) und das Fusobakterium fusiforme sowie die Sphaerophorus-Arten.
2.) als grampositive Stäbchen Propionibacterium acnes und die Eubacterium-Arten.
3.) als grampositive Kokken die Peptococcus-Arten (P.variabilis, P. asaccharolyticus, P. prevotii und andere) sowie die Peptostreptococcus-Arten (Peptostreptococcus anaerobius und andere).

Diese Bakterien sind Erreger von mono- bzw. polymikrobiellen Eiterungsprozessen sowie ursächlich beteiligt bei Meningitis, Endocarditis und Septikämie (17). Die weitaus am häufigsten auftretenden Erreger bei klinisch manifester Anaerobier-Sepsis sind die Bacteroidaceen, insbesondere Bacteroides fragilis. Die Untersuchungen von WILSON und Mitarbeitern (20) bei Patienten, von welchen positive anaerobe Blutkulturen gewonnen werden konnten, liefern folgendes Ergebnis: 25 % dieser Patienten zeigen das Krankheitsbild einer Sepsis. Von diesen sterben 31 %. Bei 78 % der nachgewiesenen Bakteriämien mit klinischer Relevanz gehörten die ursächlichen Erreger zur Gruppe der Bacteroidaceen. In 18 % der Fälle mit Anaerobier-Sepsis sind Clostridien und anaerobe Kokken die Ursache der Sepsis gewesen. 4 % entfallen auf grampositive nichtsporenbildende anaerobe Stäbchenbakterien. Bacteroides fragilis ist der zahlenmäßig dominierende Keim der physiologischen Darmflora. Nach WERNER (17) sind die Bacteroides- Arten

an etwa 50% der bakteriellen Leber- und Gallenwegsinfektionen, der Appendizitiden, Peritonitiden, Endometritiden, Adnexprozesse sowie der septischen Aborte beteiligt. Bei Blutkulturen werden von ihm in etwa 10% aller durch gramnegative Stäbchenbakterien verursachten Septikämien Bacteroides-Stämme nachgewiesen.

Propionibacterium acnes, welches zur physiologischen Hautflora gehört, gewinnt immer mehr Bedeutung als Infektionserreger bei Endocarditiden, besonders nach Herzklappenersatz (12). Im Vergleich zu den Bacteroides-Infektionen ist der Prozentsatz systemischer Infektionen durch Propionibacterium acnes jedoch sehr gering.

Die anaerob wachsenden grampositiven Kokken (Peptococcus und Peptostreptococcus) treten ebenfalls seltener als Sepsiserreger in Erscheinung. Meistens sind diese Bakterien auf der Oropharyngealschleimhaut und auf den Schleimhäuten des weiblichen Genitale anzutreffen (17). Ursache der Sepsis durch diese Erreger ist in erster Linie der infizierte Abort.

Die Entstehung von Anaerobierinfektionen wird durch Faktoren begünstigt, die zu lokaler Erniedrigung der Sauerstoffspannung führen, wie z.B. Gefäßleiden, Diabetes mellitus, Malignome, Schock und Mischinfektionen mit Sauerstoff zehrenden aeroben Bakterienarten (synergistische polymikrobielle Infektion).

Zur exakten Diagnostik der Anaerobier-Infektionen ist nach der Anzüchtung der Erreger ihre Identifizierung notwendig. Die spezielle Differenzierung der Anaerobier erfolgt entweder nach ihrem biochemischen Verhalten bei der Kohlenhydratspaltung oder aber anhand des von WERNER (18) entwickelten Verfahrens der gaschromatographischen Analyse der Fettsäuremuster, die in komplexen Bouillonkulturen durch den Stoffwechsel der Bakterien gebildet werden.

II. Angaben zur Blutkulturtechnik bei nichtsporenbildenden Anaerobiern

Zur Gewinnung der für die Blutkultur erforderlichen Blutmenge bietet sich entweder die von den Behring-Werken vertriebene Liquoid^{R}-Venüle an, von der man dann im Laboratorium die Blutkulturansätze anfertigt , oder aber das Blut wird direkt vom Patienten in Blutkulturflaschen geleitet, welche mit geeigneter Nährbouillon beschickt sind. Die unmittelbare Zuführung des Blutes in für die Bakterien geeignete Nährmedien soll die negativen Auswirkungen eines längeren Transportes der Blutproben auf das Kulturergebnis vermeiden helfen.

Um die Blutgerinnung und die natürliche bakterizide Wirkung des Blutes zu verhindern, ist die Venüle mit 1 ml 1%iger Liquoid-Lösung gefüllt. Liquoid ist polyanetholsulfonsaures Natrium (NPS), welches auch in den Blutkulturflaschen (Micrognost^{R} und Vacutainer^{R}) zur Verminderung der Blutgerinnung und zur Hemmung bakterizider Eigenschaften des Serums verwendet wird. Natriumpolyanetholsulfonat (NPS) ist aber für manche Bakterienarten nicht völlig indifferent und kann besonders den Nachweis anaerob wachsender Bakterien beeinträchtigen.

Auf der Arbeitstagung über Anaerobierinfektionen (Frankfurt, Nov. 1975) bezeichnete KÜCHLER (8) eine Transportzeit der Venüle von mehr als 4 Stunden bis zum Ansatz der Blutkultur als zu lange, um aus dem Blut noch Anaerobier (wie z.B. Bacteroides) anzüchten zu können (Persönliche Mitteilung Dr. Rosin). HORARE (6) stellte 1939 nach vergleichenden Untersuchungen mit Liquoid und Trypsin fest, daß die Anzüchtung der meisten pathogenen Bakterien durch Liquoid nicht behindert wird, jedoch im Gegensatz zu Trypsin Liquoid das Wachstum der anaeroben Streptokokken (Peptostreptococcus) ungünstig beeinflußt. GRAVES und MORELLO (3) beschreiben nicht nur eine Verhinderung des Wachstums

von Peptostreptococcus anaerobius durch NPS, sondern zudem noch ein verzögertes Wachstum von Peptococcus prevotii und Peptococcus magnus. ROSNER (10) vergleicht bei seinen Untersuchungen den Einfluß von unterschiedlichen Konzentrationen des NPS bei gleichbleibendem Nährmedium auf das Wachstum der Bakterien. Eine Konzentration von 0.05% NPS in hypertonem Medium ergibt die günstigsten Ergebnisse bei einem breiten Spektrum von Bakterienarten in Blutkulturen. WILKINS und WEST (19) berichten, daß von 13 Arten anaerober Kokken nur Peptostreptococcus anaerobius durch 0.1% Natriumpolyanetholsulfonat in seinem Wachstum beeinträchtigt wird. Entscheidend ist hierbei,in welchem Nährmedium die Bakterien unter Liquoidzusatz angezüchtet werden. So konnten z.B. die meisten Stämme von Peptostreptococcus anaerobius in supplementierter Peptonbouillon ungehindert wachsen, was auf das Vorhandensein von 2% Gelatine im Nährmedium zurückgeführt wird. Allerdings wird in einem solchen Nährmedium mehr NPS zur Unterdrückung der natürlichen Blutbakterizidie benötigt. Als günstigste Konzentrationsverhältnisse werden 0.03% NPS und 1.2% Gelatine angegeben. KOCKA et al.(7) vergleichen in einer Studie Natriumpolyanetholsulfonat mit einem neuen Antikoagulans für Blutkulturen, dem Natriumamylosulfat, bezüglich der unterschiedlichen Wirkung auf das Wachstum der anaeroben Kokken. Ihre Ergebnisse zeigen, daß Peptococcus asaccharolyticus und Peptococcus prevotii, Peptostreptococcus magnus und Peptostreptococcus productus imstande sind, sowohl unter Zusatz von Natriumpolyanetholsulfonat als auch von Natriumamylosulfat gleich gut zu wachsen,daß aber Peptococcus prevotii in Gegenwart von NPS langsamer wächst und Peptostreptococcus anaerobius in Gegenwart von 0.05% Natriumpolyanetholsulfonat am Wachstum gehindert wird, nicht jedoch bei gleicher Konzentration von Natriumamylosulfat. HALL et al.(5) vergleichen ebenfalls Natriumpolyanetholsulfonat und Natriumamylosulfat bezüglich des Ein-

flusses auf das Wachstum einer Vielzahl von Bakterien, aerober und anaerober, und stellen dabei für die im Routinebetrieb zu erwartenden Blutkulturen keinen signifikanten Unterschied fest. Betrachtet man die von HALL et al. tabellarisch zusammengefaßten Ergebnisse im einzelnen, so läßt sich sehr wohl bei den anaeroben Kokken ein Unterschied zugunsten des Natriumamylosulfats erkennen. Diese Tatsachen veranlassen WASHINGTON (15) zu der Prognose, daß zukünftig Natriumamylosulfat als Antikoagulans bei Blutkulturen bevorzugt verwendet wird.
SHANSON (14) stellt nach einem Vergleich verschiedener Blutkulturverfahren und Nährmedien ausdrücklich fest, daß Liquoid die Bacteroidaceae im Wachstum nicht behindert. Bezüglich der anaeroben Kokken gelangt er zu ähnlichen Ergebnissen wie die übrigen Autoren.

C. EIGENE EXPERIMENTELLE UNTERSUCHUNGEN

I. Material und Methode

Ein Vergleich zwischen dem Blutkulturverfahren mit Benutzung von Liquoidvenülen einerseits und Blutkulturen, welche unter Verwendung der neuen Blutkulturflaschen durchgeführt werden, andererseits setzt gleiche Ausgangsbedingungen voraus. Von einer Probe frischen venösen Humanblutes, welches zuvor mit einer bestimmten, möglichst niedrigen Keimzahl eines Anaerobierstammes inokuliert worden ist, werden die Liquoidvenülen und die Blutkulturflaschen (siehe Material) beschickt. Daraufhin werden alle Systeme bestimmten, unterschiedlich langen Transport-bzw. Wartezeiten bei Zimmertemperatur ausgesetzt, bevor die eigentliche Blutkultur beginnt. 2,7,19 und 48 Stunden nach der Inokulation werden jeweils eine Liquoid^{R}-Venüle und ein Vacutainer^{R}-Blutkulturröhrchen subkultiviert. Bei den Pasteur^{R}- und Micrognost^{R}-Blutkulturflaschen beträgt die Zeitspanne von der Inokulation bis zur Kultivierung jeweils 7,19 und 48 Stunden.

Material:

1) 100 ml frisches Humanblut + 200 µl Liquemin^{R} als Antikoagulans. (Vorversuche hatten einen Einfluß des Liquemins^{R} auf das Wachstum der zu untersuchenden Bakterienstämme ausgeschlossen)

2) Handelsübliche Liquoid^{R}-Venülen mit 1ml 1%iger Liquoid-Lösung und 8 ccm Rauminhalt, Hersteller: Behringwerke AG

3) Material für Blutkulturansatz:
Levinthalbouillon, Thioglycolat- und TVLS-Bouillon, Mueller-Hinton-Agar, 20%ige Blutagarplatten, 1 Anaerobiertopf, hergestellt von Fa. Baird & Tatlock, London Ltd.

4) Micrognost^{R}-Blutkulturflaschen mit der Brain-Heart-Infusion-Broth aus dem Institut Biotest GmbH, Frankfurt

5) Vacutainer^{R}-Blutkulturröhrchen mit 18 ml angereicherter Pepton-Nährlösung und der Verschlußkappe für Anaerobier, Hersteller: Becton & Dickinson GmbH, Heidelberg.

6) Blutkulturflaschen für Anaerobier aus dem Institut Pasteur, Chargennr.: LOT 0015 und Nr. LOT 3262 UT, Importeur: Fa. Fresenius, Homburg

7) eine frisch angezüchtete Bakteriensuspension.
Folgende anaerobe Bakterienstämme wurden benutzt:
Bacteroides fragilis Nr. 7809,Nr.354, Nr.1827,Nr. 1203, Nr. 2196
Peptococcus variabilis Nr. 4008
Peptococcus prevotii Nr. 4266
Peptococcus asaccharolyticus Nr. 1838
Peptostreptococcus anaerobius Nr.932
Peptostreptococcus spp. Nr. 27188
Sphaerophorus necrophorus Nr.914

Methode:

Ablauf einer Versuchsreihe:

Durch Vorexperimente mit Schafsblut wird die jeweils günstigste, d.h. die niedrigste, für den Test noch geeignete Bakterienkonzentration bestimmt. Bei Bacteroides fragilis kann mit einer Konzentration von 10 Bakterien /ml Blut gearbeitet werden. Bei den Versuchsreihen mit Peptokokken, Peptostreptokokken und Sphaerophorus muß die Keimkonzentration auf 1000/ml Blut erhöht werden. Als Nährmedium für eine frische Anzüchtung der für den Versuch bestimmten Bakterien ist das TVLS-Medium nach CASELITZ (1) besser geeignet als Leber-Bouillon. Die Anzüchtung der Teststämme erfolgt unter anaeroben Verhältnissen bei 37°C über 24-30 Stunden im Anaerobiertopf. Das GASPAK^{R}-Verfahren läßt sich ebenfalls mit gutem Erfolg einsetzen.

Inokulation der Blutproben

Bei der geringen Keimzahl im Versuch muß garantiert sein, daß jede Blutprobe jeweils 10 bzw. 1000 lebensfähige Keime/ml enthält. Eine kleine Menge der frisch angezüchteten Bakteriensuspension wird deshalb unter ständiger Bewegung in frischem TVLS-Medium 3 Stunden lang unter anaeroben Verhältnissen erneut bebrütet. Danach wird mittels Bakterienzählkammer nach NEUBAUER (Abb.1) die Keimzahl bestimmt und durch eine Verdünnungsreihe mit physiologischer NaCl-Lösung die gewünschte Keimdichte/ml eingestellt. Die Richtigkeit wird kulturell im Plattenzählverfahren bestätigt.

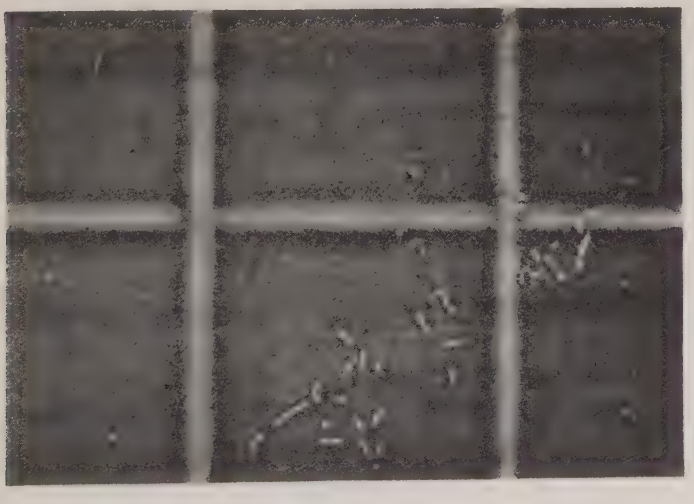


Abb.1 zeigt Bacteroides fragilis in den Kleinstquadraten der NEUBAUER-Zählkammer. Vergrößerungsmaßstab 1:100. Reproduziert auf Kleinbildfilm und etwa 10 x vergrößert.

Mit dem inokulierten Blut werden jeweils 4 Liquoid^{R}-Venülen und 4 Vacutainer^{R}-Blutkulturröhrchen sowie jeweils 3 Pasteur^{R}-und 3 Microgno st^{R}-Blutkulturflaschen beschickt. Venülen und Blutkulturflaschen werden nun bei Zimmertemperatur (20°C) bis zu 48 Stunden lang aufbewahrt. Nach festgesetzten Zeitintervallen von 2,7,19 und 48 Stunden für die Venülen und das Vacutainer^{R}-Röhrchen, sowie 7,19 und 48 Stunden für die Microgno st^{R}-und die Pasteur^{R}-Blutkulturflaschen werden die Blutkulturen angesetzt bzw. die Flaschen mit den Fertignährmedien in den Brutschrank gestellt. Der Verlauf und die Ergebnisse einer Versuchsreihe mit jeweils einem Bakterienstamm werden auf einer Kartei protokolliert.

Blutkulturverfahren für Liquoidvenülenblut

Die Blutkulturen der Blutproben aus den Liquoidvenülen werden nach folgendem Arbeitsgang durchgeführt:

Jeweils 0.5 ml von den insgesamt 6-7 ccm Liquoidvenülenblut werden auf drei Röhrchen mit verschiedenen Nährmedien verteilt. Im ersten Röhrchen befindet sich Levinthalbouillon, welche aeroben Bakterien optimale Wachstumsmöglichkeiten bietet. Bei unseren Versuchen dient dieser Ansatz zur Kontrolle, um mögliche Verunreinigungen durch aerobe Bakterien auszuschließen. Das zweite Röhrchen enthält Thioglycolatmedium nach BREWER, welches ein ideales Nährmedium für mikroaerophile Bakterien darstellt. Es genügt daher neben aeroben auch vielen anaeroben Bakterien mit einer gewissen Sauerstofftoleranz. Der Thioglycolatansatz wird ebenso wie die Levinthalbouillon aerob bebrütet. Im dritten Röhrchen ist TVLS-Medium nach CASELITZ enthalten. Das TVLS-Medium ist von seiner Zusammensetzung her und durch die unter strikt anaeroben Bedingungen durchgeführte Bebrütung besonders für streng anaerobe Bak-

terien geeignet. Die Thioglycolat- und die TVLS-Bouillon werden vor Gebrauch kurz übersterilisiert und wieder abgekühlt. Die übrigbleibende Blutmenge wird in flüssigem Mueller-Hinton-Agar aufgeschwemmt und dann eine aerob und eine anaerob zu bebrütende Blutplatte gegossen. An jedem zweiten Tag werden Subkulturen von den Bouillonansätzen angelegt. Bei den Versuchen werden die Subkulturen sowohl aerob als auch anaerob bebrütet, wobei die aerob bebrütete Platte dem Ausschluß von Sekundärverunreinigungen dient . Für diese Subkulturen werden bei unseren Untersuchungen 20%ige Blutplatten benutzt. Die erfolgreiche Anzüchtung kann teilweise jedoch bereits an der Trübung des TVLS-Mediums und der Fertignährmedien der drei zu vergleichenden Blutkulturflaschen täglich beurteilt werden und läßt sich durch die Subkulturen bestätigen.

II. Ergebnisse

Die Eignung der verschiedenen Blutkultursysteme zum Nachweis von Bacteroides-Stämmen.

Die Ergebnisse mit 5 Bacteroides-Stämmen, die mit einer Keimkonzentration von 10 Bakterien/ml in den Blutproben suspendiert waren, sind in den Tabellen 1 und 2 zusammengefaßt:

Tab.1: Nachweis von Bacteroides-Stämmen aus Blutproben von Liquoid^R-Venülen nach vier verschiedenen Zeitintervallen zwischen Füllung der Venülen und Kulturansatz.

		Kulturansätze				
	Zeit spanne	anaerob			aerob	
		Blutplatte anaerob	Thioglycolat Medium	T V L S Medium	Levinthal Bouillon	Blutplatte aerob
Bacteroides Nr. 7809	2,7,19 und 48 Std.	-	-	+	-	-
Bacteroides Nr. 354	2,7,19 und 48 Std.	+	+	+	-	-
Bacteroides Nr. 1827	2,7,19 und 48 Std.	-	+	+	-	-
Bacteroides Nr. 1203	2,7,19 und 48 Std.	+	+	+	-	-
Bacteroides Nr. 2196	2,7,19 und 48 Std.	-	-	+	-	-

Die Blutkulturen mit den 5 Bacteroides-Stämmen wurden sowohl unter Verwendung von Liquoid^R-Venülen als auch in den Blutkultursystemen (Vacutainer^R, Microgonost^R und Pasteur^R) positiv, unabhängig von einer Lagerungsdauer bis zu 48 Stunden vor Beginn des Blutkulturverfahrens.

Bei den Blutkulturansätzen von Liquoidvenülenblut ließen sich nur zwei Stämme in allen drei für Anaerobier geeigneten Nährmedien (anaerobe Blutplatte, Thioglycolat,- und TVLS-Medium) anzüchten. Drei Stämme konnten auf der anaeroben Blutplatte nicht nachgewiesen werden und bei zwei von diesen drei Stämmen wuchsen die inokulierten Bacteroides-Keime auch nicht im Thioglycolat-Medium an. Lediglich im TVLS-Medium konnten diese Stämme selbst nach einer Lagerung der Liquoid^{R}-Venülen von 48 Stunden noch angezüchtet werden. Dies macht die Notwendigkeit des TVLS-Ansatzes oder eines den anaeroben Bakterien in gleicher Weise genügenden Nährmediums deutlich, um auch bei Verwendung von Liquoid^{R}-Venülen die Keime der Bacteroides-Gruppe mit ausreichender Sicherheit zu erfassen.

Tab.2: Nachweis von Bacteroides-Stämmen im Vacutainer^{R}-Blutkulturröhrchen und in Pasteur^{R},- Micrognost^{R}-Blutkulturflaschen nach vier bzw. drei verschiedenen Zeitintervallen zwischen Inokulation und Beginn der anaeroben Bebrütung.

	Zeitspanne	Vacutainer^{R} Blutkulturröhrchen	Zeitspanne	Micrognost^{R}	Pasteur^{R} Blutkulturflaschen
Bacteroides Nr. 7809	2,7,19 und 48 Std.	+	7,19 und 48 Std.	+	+
Bacteroides Nr. 354	2,7,19 und 48 Std.	+	7,19 und 48 Std.	+	+
Bacteroides Nr. 1827	2,7,19 und 48 Std.	+	7,19 und 48 Std.	+	+
Bacteroides Nr. 1203	2,7,19 und 48 Std.	+	7,19 und 48 Std.	+	+
Bacteroides Nr. 2196	2,7,19 und 48 Std.	+	7,19 und 48 Std.	+	+

(+ Vermehrung der Keime in betreffendem Nährmedium durch anaerobe Subkultur auf 20%iger Blutagarplatte bestätigt)
(- Vermehrung der Keime in betreffendem Nährmedium nicht nachweisbar)

Die Vermehrung der inokulierten Bakterien war bei den einzelnen Blutkultursystemen durch eine unterschiedlich ausgeprägte Trübung des Nährmediums erkennbar. Bei der Micrognost^{R}-Blutkulturflasche mußte erst eine Subkultur auf festen Medien das Überleben und die Vermehrung der Teststämme bestätigen, weil eine Trübung des Nährmediums nicht deutlich erkennbar wurde. Das Vacutainer^{R}-Blutkulturröhrchen und die Pasteur^{R}-Blutkulturflasche zeigten durch ausgeprägte Trübung den Beginn der exponentiellen Vermehrungsphase der Bakterien an. Ähnlich konnten die anaeroben Kulturansätze des Liquoidvenülenblutes beurteilt werden, wobei der TVLS-Ansatz sich unzweideutig interpretieren ließ. Die Zeitspanne bis zur sichtbaren Trübung, bzw. bis zum Eintritt der exponentiellen Vermehrungsphase der Bakterien, war mit 24-28 Stunden bei dem Vacutainer^{R}-Blutkulturröhrchen und der Pasteur^{R}-Blutkulturflasche kürzer als bei der Micrognost^{R}-Blutkulturflasche, in welcher die Keime durchschnittlich 36-40 Stunden bis zur sichtbaren Trübung benötigten. Das Blutkulturverfahren vom Liquoidvenülenblut ermöglichte nach ca 30-34 Stunden beim TVLS-Ansatz die ersten Aussagen über ein Wachstum der inokulierten Keime. Wie Tab.1 zeigt, sind bei Blutkulturen von Blut aus Liquoid^{R}-Venülen Bacteroides-Keime durch die anaerob bebrütete Blutplatte und durch den Thioglycolat-Ansatz nur unzureichend zu erfassen. Obendrein ließ sich das Wachstum der Bacteroides-Stämme in diesen Nährmedien schwieriger nachweisen. Der Thioglycolat-Ansatz machte wegen einer schlecht erkennbaren Trübung des Nährmediums immer eine Subkultur notwendig. In der mit Liquoidvenülenblut gegossenen und anaerob bebrüteten Blutagarplatte ließen sich die Kolonien erst nach drei Tagen erkennen.

Eignung der verschiedenen Blutkultursysteme zum Nachweis von grampositiven anaeroben Kokken:

Bei den Versuchsreihen mit grampositiven anaeroben Kokken und mit einem Sphaerophorus-Stamm erwiesen sich alle zum Vergleich herangezogenen Blutkultursysteme als insuffizient, wenn die Ausgangskeimzahlen sehr niedrig waren. Bei einer Inokulationsdichte von nur 10 Keimen/ml Blut waren die eingeimpften Erreger weder mit Liquoidvenülen noch mit den handelsüblichen Systemen nachweisbar. Erst mit höheren Keimzahlen ab 1000 Erreger/ml zu untersuchenden Blutes gelang der Nachweis sowohl über die Liquoid^{R}-Venüle als auch in den handelsüblichen Blutkulturflaschen. Die Ergebnisse sind in den Tabellen 3 und 4 dargestellt.

Tab.3: Nachweis von grampositiven anaeroben Kokken und Sphaerophorus aus Blutproben von Liqouid^{R}-venülen nach vier verschiedenen Zeitintervallen zwischen Füllung der Venülen und Kulturansatz.

		Kulturansätze				
		anaerob			aerob	
	Zeitspanne	Blutplatte anaerob	Thioglycolat Medium	TVLS Medium	Levinthal Bouillon	Blutplatte aerob
Peptococcus variabilis Nr. 4008	2,7,19 und 48 Std.	+	+	+	-	-
Peptostreptococcus anaerobius Nr. 932	2,7,19 und 48 Std.	-	-	+	-	-
Peptococcus prevotii Nr. 4266	2,7,19 und 48 Std.	+	+	+	-	-
Peptococcus asaccharolyticus Nr. 1838	2,7,19 und 48 Std.	+	+	+	-	-
Peptostreptococcus Nr. 27188	2,7,19 und 48 Std.	+	+	+	-	-
Sphaerophorus necrophorus Nr. 914	2,7,19 und 48 Std.	+	+	+	-	-

Tab.4: Nachweis von grampositiven anaeroben Kokken und Sphaerophorus im Vacutainer^{R}-Blutkulturröhrchen und in Pasteur^{R},- Micrognost^{R}-Blutkulturflaschen nach vier bzw. drei verschiedenen Zeitintervallen zwischen Inokulation und Beginn der anaeroben Bebrütung.

	Zeitspanne	Vacutainer^{R} Blutkulturröhrchen	Zeitspanne	Micrognost^{R} Blutkulturflaschen	Pasteur^{R} Blutkulturflaschen
Peptococcus variabilis Nr. 4008	2,7,19 und 48 Std.	+	7,19 und 48 Std.	+	+
Peptostreptococcus anaerobius Nr. 932	2,7,19 und 48 Std.	+	7,19 und 48 Std.	-	+
Peptococcus prevotii Nr. 4266	2,7,19 und 48 Std.	+	7,19 und 48 Std.	+	+
Peptococcus asaccharolyticus Nr. 1838	2,7,19 und 48 Std.	+	7,19 und 48 Std.	+	+
Peptostreptococcus Nr. 27188	2,7,19 und 48 Std.	+	7,19 und 48 Std.	+	+
Sphaerophorus necrophorus Nr. 914	2,7,19 und 48 Std.	+	7,19 und 48 Std.	+	+

(+ Vermehrung der Keime in betreffendem System durch anaerobe Subkultur auf 20%iger Blutagarplatte bestätigt)
(- Vermehrung der Keime in betreffendem System nicht nachweisbar)

Im Unterschied zur Versuchsreihe mit Bacteroides-Stämmen trat bei den anaeroben Kokken keine Trübung der Nährmedien ein. Die Recovery der inokulierten Teststämme war erst durch anaerobe Subkulturen auf festen Nährmedien (20 % Blutplatte) möglich. Lediglich beim Teststamm Sphaerophorus war im Vacutainer^{R}- Röhrchen und in der Pasteur^{R}-Blutkulturflasche eine Trübung als Hinweis auf die sich vermehrenden Keime erkennbar, nicht dagegen in den Micrognost^{R}-Blutkulturflaschen. Eine nicht getrübte Nährbouillon schließt also eine positive Kultur nicht aus. Deshalb müssen auch von makroskopisch unauffälligen flüssigen Kulturansätzen Subkulturen angelegt werden.

Wegen der wenig ausgeprägten Trübung war es nicht möglich, genaue Angaben über die Anzüchtungsdauer in den verschiedenen Blutkultursystemen und Nährmedien zu ermitteln. Es dürften aber ähnliche Zeitverhältnisse wie bei den Versuchsreihen mit Bacteroides gelten. Die Bebrütungsdauer der in jedem Fall durchgeführten Subkulturen betrug 48 Stunden, unabhängig von welchem Blutkulturverfahren bzw. Nährmedium diese angelegt wurden. Wenn man für die Anzüchtung in den Fertignährmedien und in den Kulturansätzen des Liquoidvenülenblutes eine Dauer von 30-40 Stunden zu Grunde legt, und dann die Subkulturen mit jeweils 48 Stunden berücksichtigt, so ergibt sich eine Anzüchtungsdauer von 3-4 Tagen bis zur Sicherstellung der Diagnose einer positiven Blutkultur. Wie Tabelle 4 zeigt, war bei einem Peptostreptococcus-Stamm mit dem Microgenost-Blutkultursystem ein positives Blutkulturergebnis nicht möglich. Dies war die einzige Versuchsreihe, in welcher eine vom Handel angebotene Blutkulturflasche mit Fertignährmedium versagte, obwohl die zu vergleichenden übrigen Blutkultursysteme, auch das Kulturverfahren mit Liquoid^{R}-Venülen, ein positives Blutkulturergebnis erbracht hatten. Aus Tabelle 3 wird wiederum deutlich, daß der Einsatz des Thioglycolatmediums und der anaeroben Blutplatte allein nicht ausreicht, um anaerobe grampositive Kokken ebenso sicher nachweisen zu können wie mit den Pasteur^{R}- und Vacutainer^{R}-Fertignährmedien. Erst die mit dem TVLS-Ansatz erzielten Ergebnisse stellen das herkömmliche Blutkulturverfahren mit Gebrauch von Liquoid^{R}-Venülen gleichwertig neben diese vom Handel angebotenen Blutkultursysteme.

D. DISKUSSION

Der Nachweis einer Sepsis durch Blutkulturen kann generell und besonders bei Anaerobier-Infektionen Schwierigkeiten bereiten. Als Gründe sind zu diskutieren:

1. Oft wird die Blutentnahme nicht zum günstigsten Zeitpunkt, zu dem die Erreger vermehrt im Blut auftreten, durchgeführt.
2. Die Höhe der Ausgangskeimzahlen spielt eine ausschlaggebende Rolle für das Wachstum der Bakterien in einem neuen Milieu.
3. Sekundäre Kontaminationen während der Blutentnahme oder beim Ansetzen der Blutkultur oder Subkultur können zu irreführenden Kulturergebnissen führen.
4. Längere Transportzeiten zwischen Blutentnahme und dem Ansatz der Blutkultur können die Anzüchtung der Bakterien erschweren.
5. Das Natriumpolyanetholsulfonat in den Liquoidvenülen soll anaerob wachsende Bakterien direkt schädigen.
6. Während einer Chemotherapie, auch bei einer subinhibitorischen, lassen sich die Bakterien nur schwer anzüchten.
7. Anaerob wachsende Bakterien können durch den Einfluß von Sauerstoff im Blut toxisch geschädigt werden.
8. Die Anzüchtung anaerober Bakterien stellt höhere Anforderungen an das Nährmedium und an das Kulturverfahren.

Unter Berücksichtigung dieser Faktoren sollen nun die Ergebnisse des experimentellen Vergleichs zwischen dem konventionellen Blutkulturverfahren mit Liquoid^{R}-Venülen und den vom Handel angebotenen Blutkulturflaschen betrachtet werden.

Zu 1 Bei einer Sepsis gelangen die Bakterien oft periodisch vom Infektionsherd in das Blut. FREITAG (2) stellte fest, daß die Bakterien zu Beginn des Fieberanstiegs vermehrt ins Blut abgegeben werden. Mit der Keimzahl im Blut nehmen auch die bakteriellen Zerfallsprodukte zu. Diese Endotoxine bewirken als exogene Pyrogene über die Bildung eines endogenen Pyrogens einen An-

stieg der Körpertemperatur (HAHN 4). Eine Blutentnahme zu Beginn des Temperaturanstiegs bietet am ehesten die Wahrscheinlichkeit, eine Blutprobe mit Bakterien in vermehrungsfähigem Zustand zu erhalten. Es empfiehlt sich daher bei Verdacht auf Sepsis die Blutentnahme während des Fieberanstiegs vorzunehmen (FREITAG 2). Auch bei den hier durchgeführten Experimenten mit niedrigen Keimzahlen mußte die Vermehrungsfähigkeit der inokulierten Bakterien regelmäßig gewährleistet sein. Dazu wurden sie jeweils in frischer Bouillon angezüchtet und während ihrer Vermehrungsphase inokuliert.

Zu 2 Die Versuchsreihen mit Bacteroides fragilis wurden bei einer Keimeinsaat von 10 vermehrungsfähigen Keimen/ml Blut durchgeführt. Die in Tab 1 und 2 zusammengefaßten Ergebnisse machen deutlich, daß bei dieser niedrigen Keimzahl sowohl mit dem konventionellen Liquoid-Verfahren als auch mit den Blutkulturflaschen positive Blutkulturen gewonnen werden konnten. Bei den Versuchsreihen mit anaeroben Kokken war eine höhere Bakterienkonzentration notwendig. Bei Keimzahlen von weniger als 1000/ml Blut wurden die Blutkulturen weder bei den Blutkulturflaschen (Pasteur^{R}, Micrognost^{R}und Vacutainer^{R}) noch bei dem konventionellen Verfahren unter Verwendung der Liquoid^{R}-Venüle positiv. Erst ab Bakterienkonzentrationen von 1000/ml konnte sowohl mit der Liquoid^{R}-Venüle als auch mit den drei zu vergleichenden Blutkulturflaschen eine positive Blutkultur erzielt werden. Unter vergleichbaren experimentellen Bedingungen liegt die untere quantitative Nachweisgrenze dieser anaeroben Sepsiserreger bei Blutkulturflaschen in derselben Größenordnung wie bei dem Verfahren mit Liquoid^{R}-Venülen.

Zu 3 Sekundäre Kontaminationen während der Blutentnahme oder beim Ansatz der Blutkultur können irreführende Kul-

turergebnisse verursachen. Das Liquoid-Blut in der Venüle ist kein guter Nährboden für ein Wachstum der inokulierten Bakterien. Keime, die durch Verunreinigung in die Liquoid^{R}-Venüle gelangt sind, vermehren sich kaum bis zur kulturellen Bearbeitung.Bei der Blutkultur von Liquoid^{R}-Venülen wird die Blutprobe auf mehrere - in dieser Studie auf vier - Nährmedien verteilt. Eine eventuelle sekundäre Verunreinigung ist oft daran erkennbar, daß nur einer dieser vier Kulturansätze positiv wird. Wachstum in nur einem Nährmedium bei Sterilität der übrigen Medien läßt eine Verunreinigung zumindest als möglich erscheinen. Anders liegen die Verhältnisse bei Verwendung von Flaschensystemen. Schon eine geringe als Sekundärverunreinigung in die Flasche gelangte Keimmenge findet gute Voraussetzungen zu einer raschen Vermehrung. Diese setzt eventuell schon bei Zimmertemperatur ein. Sekundärverunreinigungen können bereits bei der Blutentnahme oder bei den nachfolgend notwendigen, häufigen Probenentnahmen aus den Flaschen zur diagnostischen Subkultur erfolgen. So kann ein positives Blutkulturergebnis vorgetäuscht werden, obwohl keine Septikämie vorliegt. Selbst wenn die zu untersuchende Blutprobe Krankheitserreger - z.B. Anaerobier- enthält, lassen sich diese in einer sekundär kontaminierten Blutkulturflasche kaum noch nachweisen, falls die Kontaminationskeime schneller wachsen und somit die pathogenen Erreger überwuchern. Auch aus Subkulturen lassen sich dann kaum noch Rückschlüsse auf die kausalen Sepsiserreger ziehen. Sekundäre Kontaminationen sind bei Verwendung von Blutkulturflaschen wesentlich schwerer erkennbar und als solche interpretierbar als beim Venülen-Verfahren.

Zu 4 Eine zu große Zeitspanne zwischen Entnahme der Blutprobe und dem Ansatz der Blutkultur beeinträchtigt die Anzüchtung besonders der anaeroben Bakterien aus dem Blut.

Einflüsse der natürlichen Blutbakterizidie, der Temperaturschwankungen und des Natriumpolyanetholsulfonats werden hierfür verantwortlich gemacht. Natriumpolyanetholsulfonat findet als Antikoagulans sowohl in den Liquoid^{R}-Venülen als auch in den Blutkulturflaschen Verwendung. In den Venülen jedoch sind die Sepsiskeime diesen Einflüssen verstärkt ausgesetzt. Die Blutkulturflaschen haben den Vorteil, daß die Blutprobe bereits im Kulturmedium transportiert wird und daß durch den Verdünnungseffekt, welcher sich durch Vermischung einer geringen Blutmenge mit einem größeren Volumen Nährbouillon ergibt, die Einflüsse der natürlichen Blutbakterizidie vermindert werden. Die Verdünnung der Blutprobe in Nährbouillon beträgt beim Vacutainer^{R} etwa 1:9 und bei den Pasteur^{R}- und Microgonost^{R}- Flaschen etwa 1:6.

Die hier ermittelten Ergebnisse von 11 Anaerobier-Stämmen zeigen jedoch, daß nach Lagerungszeiten bis zu 48 Stunden bei Zimmertemperatur sowohl Bacteroides als auch Peptokokken, Peptostreptokokken und Sphaerophorus aus Liquoid^{R}-Venülenblut ebenso zuverlässig anzüchtbar sein können wie bei Verwendung von handelsüblichen Blutkulturflaschen. Selbst die Dauer der Anzüchtungszeit, gemessen vom Ansatz der Blutkultur bis zur sichtbaren Trübung, ist kaum unterschiedlich lang. Nach 48-stündiger Lagerung ist der Erregernachweis in den Venülen und in den Blutkulturflaschen ebenso schnell möglich wie nach zweistündiger Lagerungszeit. Dieses Ergebnis steht im Gegensatz zu der Mitteilung von KÜCHLER (8), nach der Anaerobier aus Liquoid^{R}-Venülenblut nicht mehr anzüchtbar seien, wenn mehr als 4 Stunden bis zum Ansatz der Blutkultur verstreichen.

Zu 5 In der Liquoid^{R}-Venüle, wie auch in den drei zu vergleichenden Blutkulturflaschen, befindet sich Natriumpolyanetholsulfonat, welches die Blutgerinnung verhindert und

die natürliche Blutbakterizidie unterdrücken soll. Jedoch wird von verschiedenen Autoren (3;6;7;19) -wie im Abschnitt B II " Angaben zur Blutkulturtechnik" dargestellt- berichtet, daß Natriumpolyanetholsulfonat die Anzüchtbarkeit der anaeroben Bakterien, insbesondere der anaeroben Kokken, behindert. Da das Natriumpolyanetholsulfonat in den Blutkulturflaschen in geringeren Konzentrationen vorliegt als in der Liquoid^{R}-Venüle, müßten diese Bakterien demzufolge in den Flaschensystemen besser anzüchtbar sein. In der gefüllten Venüle liegt NPS in ca 0.14%iger, im gefüllten Vacutainer^{R}-Blutkulturröhrchen dagegen nur in etwa 0.025 %iger Konzentration vor. Nach den Ergebnissen unserer Vergleichsuntersuchungen ist dieser Unterschied in der NPS-Konzentration, der im Werbeschrifttum als Vorteil der Blutkulturflaschen besonders betont wird, unter den gewählten Bedingungen jedoch ohne Effekt auf die Anzüchtbarkeit von anaeroben Erregern gewesen.

Zu 6 Durch Antibiotika-Einwirkung, speziell bei ß-Laktam-Antibiotika, können subletale Zellwandschädigungen der Bakterien resultieren. Diese bewirken eine hohe osmotische Labilität der Bakterien und erschweren ihre Anzüchtung in künstlichen Nährmedien. Um den Effekt einer Anbehandlung zu unterbrechen, wird den Nährmedien beim Blutkulturverfahren mit Liquoid^{R}-Venülen Penicillinase hinzugegeben. In den Blutkulturflaschen ist wiederum der Verdünnungseffekt nützlich, welcher die Antibiotikakonzentration verringert und dadurch die Erholung des Bakterienstoffwechsels und die Vermehrungsfähigkeit der Erreger begünstigt. Dieser Vorteil ist jedoch von fraglicher praktischer Bedeutung. In jedem Fall bietet eine Blutentnahme vor Therapiebeginn oder nach Absetzen der Therapie im Antibiotikafreien Intervall die weitaus bessere Voraussetzung für positive Blutkulturergebnisse.

Zu 7 Sauerstoff behindert die Anzüchtung der Anaerobier. Ihre Sauerstoffempfindlichkeit differiert jedoch von Spezies zu Spezies in weiten Grenzen. Die meisten pathogenen Anaerobier tolerieren noch Sauerstoffkonzentrationen von 2-5 Vol% O_2. Die sogenannten strengen Anaerobier vermehren sich nicht mehr in Anwesenheit von über 0.5 Vol.% O_2(9). Im Blut wird der Sauerstoff fast gänzlich chemisch an das Hämoglobin in den Erythrozyten gebunden. Der freie, im Plasma physikalisch gelöste Sauerstoffanteil ist sehr gering. Er beträgt im arteriellen Blut 0.3Vol.% O_2. Nach dem HENRY-DALTONSCHEN Gesetz (13)errechnet sich dann für das venöse Blut ein gelöster Sauerstoffanteil von nur 0.13 Vol% O_2. Dieser Umstand kann eine Erklärung dafür sein, daß die Anaerobier in dieser Studie Lagerungszeiten von 48 Stunden in den Liquoid^R-Venülen gut überlebten. Der Sauerstoffgehalt in den Blutproben hat die Anzüchtbarkeit der zugesetzten Anaerobier nicht wesentlich beeinträchtigt. Den Blutkulturflaschen werden für die anaerobe Bebrütung spezielle Belüftungseinheiten aufgesetzt. Dennoch kann Sauerstoff in die Flaschen gelangen, wenn es bei den häufig notwendigen Probeentnahmen zur diagnostischen Subkultur zum Druckausgleich durch Lufteinwirkung kommt. Wichtiger als das Sauerstoffproblem und die entscheidende Voraussetzung für die Anzüchtung von Anaerobiern aus Blutkulturen ist es, daß diesen Bakterienarten speziell geeignete Nährmedien angeboten werden.

Zu 8 Anaerob wachsende Bakterien benötigen neben der Anaerobiose ein besonders nährstoffreiches Milieu mit negativem Redoxpotential für ihren Stoffwechsel. Die vorliegenden Ergebnisse zeigen,daß die Bouillon in den Blutkulturflaschen der drei Hersteller (Microgno^R-, Pasteur^R- und Vacutainer^R- System) ohne größere Unterschiede den Nährstoffansprüchen der Anaerobier gut genügten.

Lediglich in den Micrognost^{R}-Flaschen erfolgte die Anzüchtung vergleichsweise etwas langsamer. Das Bakterienwachstum war weniger deutlich an der Trübung der Micrognost^{R}-Bouillon erkennbar. Bei einer Versuchsreihe mit Peptostreptococcus anaerobius wuchsen die inokulierten Keime in den Micrognost^{R}-Flaschen im Unterschied zu den parallel inokulierten anderen Testsystemen nicht an.
Nach Blutentnahme mittels Liquoid^{R}-Venüle hat das bakteriologische Laboratorium die Möglichkeit, die Blutprobe auf mehrere Nährmedien zu verteilen. In Übereinstimmung mit den Ergebnissen von WERNER und Mitarbeitern (16) bestätigt diese Studie, daß die einfache Thioglycolatbouillon ,die zwar die reduzierende Substanz Thioglycolat enthielt, den Wachstumsbedürfnissen der strengen Anaerobier offenbar nicht entspricht. Die einfache Thioglycolatbouillon reicht zur Anaerobierdiagnostik eindeutig nicht aus.
Auch die Aufnahme der Blutproben in Mueller-Hinton-Agar ergibt noch keinen guten Nährboden für die Anaerobierkultur. Die mit Mueller-Hinton-Agar und Anaerobier haltigem Blut gegossenen Platten blieben trotz anaerober Bebrütung zu einem großen Teil steril oder wurden erst zu einem relativ späten Zeitpunkt erkennbar positiv.
Dagegen erwies sich die von CASELITZ (1) vorgeschlagene TVLS-Bouillon als ausgezeichnete Nährlösung für alle untersuchten Anaerobier. CASELITZ(1) begründet die Vorteile seines Thioglycolat-VF-Leberbouillonfiltrat-Serum-Mediums (TVLS) mit folgenden Eigenschaften der Hauptbestandteile:

1. Thioglycolat wird als reduzierende Substanz eingesetzt.
2. Durch kurze Übersterilisation des Nährmediums vor Gebrauch sowie durch Bebrütung im Anaerobiertopf wird das Redoxpotential über längere Zeit aufrecht erhalten.
3. Serophile Bakterien werden durch Zugabe von 1 ml frischen Rinderserums berücksichtigt.

4. Verdaute Fleischbouillon bietet niedermolekulare Eiweißkörper, welche für bestimmte anaerobe Bakterien notwendig sind.
5. Bouillon aus Lebergewebe enthält weitere für Anaerobier wertvolle Nährstoffe und hat zusätzlich reduzierende Eigenschaften.

Diese oder gleichwertige Nährlösungen sind für einen sicheren Anaerobiernachweis empfehlenswert und notwendig.

So erlauben die Ergebnisse von 11 vergleichenden Versuchsserien zur Problematik von Blutkulturverfahren folgende Stellungnahme:
Das konventionelle Blutkulturverfahren nach Blutentnahme mit der Liquoid^{R}-Venüle kann für die Diagnose der Anaerobiersepsis ebenso leistungsfähig sein wie die vom Handel angebotenen Blutkulturflaschen mit Fertignährmedien. Die entscheidende Voraussetzung ist, daß ein für Anaerobier besonders gut geeignetes Nährmedium (z.B. TVLS-Medium) eingesetzt wird. Die Vorteile der Blutkulturflaschen liegen in der technisch einfacheren Durchführbarkeit des Blutkulturverfahrens. Die Blutkultur kann auch außerhalb eines Laboratoriums zur Bebrütung angesetzt werden. Zeichnet sich durch Trübung Bakterienwachstum ab, müssen die weiterführenden Untersuchungen (Subkulturen) in mikrobiologischen Laboratorien vorgenommen werden. Hierbei ist aber zu beachten, daß eine fehlende Trübung ein Erregerwachstum nicht ausschließt. Daher ist eine bakteriologische Diagnostik durch Subkulturen in jedem Fall notwendig. Die Blutkultur von Liquoidvenülenblut erfordert von vornherein eine bakteriologische Technik und die Herstellung von verschiedenen Nährmedien, wie es nur in einem Fachlaboratorium möglich ist. Jedoch läßt das konventionelle Blutkulturverfahren Fehlinterpretationen, hervorgerufen durch Sekundärverunreinigungen, besser vermeiden.

E. ZUSAMMENFASSUNG

1. Mit Hilfe der Angaben im Schrifttum wird die pathogenetische Bedeutung sporenloser anaerob wachsender Bakterien bei Sepsis erläutert.

2. Durch Untersuchungen mit 11 Anaerobier-Stämmen wird das Blutkulturverfahren mit drei handelsüblichen Blutkulturflaschen im Vergleich zum konventionellen Verfahren mit Liquoidvenülen geprüft.

3. Die Test-Stämme waren 5 x Bacteroides-, 3 x Peptococcus-, 2 x Peptostreptococcus- und 1 x Sphaerophorus-Stämme.

4. Das konventionelle Blutkulturverfahren kann für die Diagnose der Anaerobiersepsis ebenso leistungsfähig sein wie die Blutkulturflaschen, wenn eine für Anaerobier speziell geeignete Nährbouillon verwandt wird.

5. Aus den Liquoidvenülen sind Anaerobier dann auch nach 48 Stunden Transportzeit und bei niedriger Keimzahl noch anzüchtbar.

6. Die Vorteile der Blutkulturflaschen mit Fertignährmedien liegen in der technisch einfacheren Durchführbarkeit der Blutkultur.

7. Das konventionelle Blutkulturverfahren hat den wichtigen Vorteil, daß Fehlinterpretationen durch Sekundärverunreinigungen leichter vermeidbar sind.

F. LITERATUR

1. CASELITZ,F.H.; FREITAG,V.:
Halbflüssiges Kombinationsnährmedium (TVLS-Medium) zur Züchtung anaerober Bakterien.
Ärztl. Lab. 15, 426-430(1969)

2. FREITAG,V.:
Die Blutkultur am Krankenbett
Med. Klin. 46, 2036-2039 (197o)

3. GRAVES,M.H.; MORELLO,J.A.; KOCKA,F.E.:
Sodium Polyanethol Sulfonate Sensitivity of Anaerobic Cocci
Appl. Microbiol. 27, 1131-1133 (1974)

4. HAHN,H.:
Fieber
Immunität und Infektion 1, 63-72 (1974)

5. HALL,M.M.; WARREN,E.; ILSTRUP,D.M.; WASHINGTON,J.A.:
Comparison of Sodium Amylosulfate and Sodium Polyanetholsulfonate in Blood Culture Media
J. Clin. Microbiol. 3, 212-213 (1976)

6. HORARE, E.D.:
The Suitability of "Liquoid" for Use in Blood Culture Media, with Particular Reference to Anaerobic Streptococci
J. Path. Bakt. 48, 573-577 (1939)

7. KOCKA,F.E.; ARTHUR,E.J.; SEARCY,R.L.:
Comparative Effects of two Sulfated Polyanions used in Blood Culture on Anaerobic Cocci
J. Clin. Path. 61, 25-27 (1974)

8. KÜCHLER, R.:

Vortrag und Diskussionsbeitrag auf der Arbeitstagung " Infektionen durch sporenlose Anaerobier " 25.-26. Nov. 1975, Frankfurt a.M.

9. LOESCHE, W.J.:

Oxygen sensitivity of various anaerobic bacteria
Appl. Microbiol. 18, 723-727 (1969)

10. ROSNER, R.:

Comparison of Recovery Rates of Various Organisms from Clinical Hypertonic Blood Cultures by Using Various Concentrations of Sodium Polyanethol Sulfonate
J. Clin. Microbiol. 1, 129-131 (1975)

11. ROTTER,M.; WERNER, H.-P.; LACKNER,F.; PICHLER,H.:

Vergleichende Untersuchungen an Kulturverfahren mit Ionenaustauscher- und "Liquoid"-haltigen Medien
Zbl. Bakt. Hyg. A. 225, 175-186 (1973)

12. VAN SCOY,R.E.; COHEN,S.N.; GERACI,J.E.; WASHINGTON,J.A.:

Coryneform Bacterial Endocarditis
Mayo-Clin Proc. 52, 216-219 (1977)

13. SCHMIDT,R.F.; THEWS,G.:

Einführung in die Physiologie des Menschen
18. Auflage, 491 (1976) Springer-Verlag

14. SHANSON. D.C.:

An experimental asseasement of different anaerobic blood culture methods
J. Clin. Path. 27, 273-279 (1974)

15. WASHINGTON, J.A.:

Blood Cultures, Principles and Techniques
Mayo-Clin. Proc. 50, 91-98 (1975)

16. WERNER,H.; KRASEMANN,C.; GROHMANN,A.:

Wachstum sporenloser Anaerobier in sauerstoffreiem Blutkulturmedium
Zbl. Bakt. Hyg., I. Abt. Orig. A 237, 569-573 (1977)

17. WERNER,H.:

Infektion durch sporenlose Anaerobier
Monographie, Fa. Hoechst D. 256 - Nov. 1975 (8089)

18. WERNER,H.:

Anaerobierdifferenzierung durch gaschromatographische Stoffwechselanalysen
Zbl. Bakt. Hyg. 220, 446-451 (1972)

19. WILKINS,T.D.; WEST, S.E.H.:

Medium-Dependent Inhibition of Peptostreptococcus anaerobius by Sodium Polyanetholsulfonate in Blood Culture Media
J. Clin. Microbiol. 3, 393-396 (1976)

20. WILSON,W.R.; MARTIN,W.J.; WILKOWSKE,D.J.; WASHINGTON,J.A.:

Anaerobic Bacteremia
Mayo-Clin. Proc. 47, 639-646 (1972)

LEBENSLAUF

Am 7. Mai 1953 wurde ich als zweiter Sohn des Dr. med. Karl Lohmann und seiner Frau Dr. med. Hildegard Lohmann, geb. Stangier, in Münster/Westf. geboren.
Nach dem Besuch der Volksschule in meinem Heimatort Herbern (1959-1964) war ich von 1964-1969 Schüler des altsprachlichen Mauritiusgymnasiums in Büren/Westf.
1969 wechselte ich auf das Gymnasium Canisianum in Lüdinghausen, wo ich am 17. Mai 1972 meine Reifeprüfung ablegte.
Im Wintersemester 1972/73 nahm ich das Studium der Medizin an der Universität Fribourg (Schweiz) auf. Nach Abschluß des vorklinischen Medizinstudiums studierte ich seit dem Wintersemester 1975/76 an der Universität Düsseldorf, wo ich im Herbst 1979 die Ärztliche Prüfung bestand.